

大麦網斑病菌 (*Pyrenophora teres* Drechs.)

の分生子形成に関する研究

II. 近紫外光照射下における日長、培地および温度の効果

佐藤 和 広 武田 和 義

緒 言

作物の病害抵抗性を検定するためには、接種源（本病においては分生子）の確実な培養方法を確立することが必要である。著者らは前報（佐藤・武田 1990）において大麦網斑病菌 (*Pyrenophora teres*) の分生子形成条件を検討し、菌糸体の伸長適温は25°C よりやや高いこと、分生子形成には見里・原培地、V-8 培地および大麦葉培地が適しており、分生子形成の好適温度は菌株によって異なること、ブラックライト（以下 BLB、東芝製、波長域は352nm を中心に300~400nm）と白色蛍光灯（波長域は480nm ならびに580nm を中心とする300~760nm）の組合せによる連続照明では培養後期の BLB 照射が分生子形成に有効であることなどを報告した。

一方、ONESIROSAN and BANTTARI (1969) は *P. teres* の分生子柄形成には310~355nm の波長域の光を要し、分生子が形成されるには355~495nm の波長域を除くか暗期を与えることが必要であるとしている。このように、近紫外光が分生子柄形成を促進し、その後の暗期が分生子形成を促進するという報告は *P. teres* 以外の病原菌においても知られている (LEACH 1961, CHARLILE 1965, LEACH 1967)。BLB は分生子柄形成を促進する310~355nm と分生子形成を阻害する355~495nm の波長域を同時に含んでいるため、BLB を連続照射すると分生子柄の形成は促進されるものの、分生子の形成は阻害されるとみられる。従って、BLB の照射中に暗期を挿入することで BLB による分生子形成の阻害作用が除かれる可能性がある。

本報においては、まず BLB 照射と暗期を交互に繰り返す日長処理が分生子形成に及ぼす効果を調査し、好適 BLB 日長条件での分生子形成の経時の変化を調査するとともに分生子の熟度を揃える培養法を検討した。さらに、好適 BLB 日長条件での最適培養温度を検討し、多数の菌株を用いて普遍的な分生子形成法として適用可能な培養条件を確立した。

本実験で使用した菌株のうち、北海道の菌株は北海道立北見農業試験場より、関東地方の菌株は東京大学植物病理学研究室の奥 尚博士より、カナダの菌株はカナダ農務省マニトバ試験場の A. Tecauz 博士よりそれぞれ分譲いただいた。ここに記して謝意を表する。

材料および方法

用いた菌株の由来を一括して Table 8 に示した。いずれの実験においても、病原菌は直径 9 cm のプラスチック製ペトリ皿に培地を 20cc 分注した平面培地を用いて 14 日間培養し、1 ペトリ皿を 1 反復とした。分生子の形成状態は実体顕微鏡によって観察し、0 : 無, 0.5 : 極微, 1 : 微, 2 : 少, 3 : 中, 4 : 多の 6 段階で評価した。

1. BLB 照射の日長効果

実験 1 BLB 日長

BLB の照射時間を 1 日あたり 0, 1, 8, 12, 16, 23, 24 時間の 7 段階とし、BLB 日長の差異が分生子形成に及ぼす影響を調査した。菌株は北海道産の K001 ならびに K105, カナダ産の C102 ならびに C1581 の 4 菌株を用いた。培地は見里・原培地 (粉末酵母エキス 2 g, 可溶性澱粉 10 g, 寒天 15 g, 脱イオン水 1 ℓ), V-8 培地 (V-8 ジュース 200 ml, CaCO_3 3 g, 寒天 15 g, 脱イオン水 1 ℓ) および大麦葉培地 (大麦葉 40 g, KH_2PO_4 2 g, 寒天 15 g, 脱イオン水 1 ℓ) の 3 種類を用いた。培養温度は 25°C とし、各区に 3 反復を設けた。

実験 2 経時的観察

実験 1 と同じ 4 菌株を V-8 培地に置床して BLB12 時間日長、25°C で 2 反復を設けて培養し、毎日の菌体の伸長をペトリ皿にマークして、それぞれの日に伸長した領域ごとの分生子形成を実体顕微鏡によって観察し、分生子形成の経時的变化を調査した。9 cm のペトリ皿の中央に置床すると 1 週間～10 日で菌糸が周辺まで伸びてしまうので、この実験では菌そう片をペトリ皿の片端に置床して、より長期間にわたって菌の成長を観察できるように工夫した。

実験 3 前処理および気中菌糸除去

培養期間の前半 (1st phase) を連続暗期および BLB 連続照射の 2 条件とし、培養期間の後半 (2nd phase) は BLB12 時間日長として K001 と C102 の 2 菌株を培養し、培養開始後 14 日目に前期と後期にそれぞれ伸長した領域別に分生子形成量を調査した。前期と後期の期間区分は、Table 4 に示すとおり、前期を培養開始後 2 日目まで、4 日目まで、6 日目まで、8 日目まで、10 日目まで、12 日目までおよび全期間 (後期は 14 日目までの残りの日数) とする 7 処理とした。さらに、分生子形成に対する気中菌糸の除去効果 (山口 1980) を調べるために、培地上に滅菌した濾紙を 1 枚敷き、その上に菌体を置床して培養し、前期が終了した段階で濾紙を剥離する処理 (これによって気中菌糸が除去される) を、前記の各処理区ならびに全期間 BLB12 時間日長の処理区について行い、分生子形成を前期と後期の伸長領域別に調査した。培養は V-8 培地で行い、25°C で 3 反復とした。

2. BLB12 時間日長における温度および培地の効果

実験 4 温度および培地

実験 1 と同じ 4 菌株を用い、温度条件を 10, 15, 20, 25 および 30°C の 5 段階に設定し、見里・原培地、V-8 培地及び大麦葉培地の 3 種類の培地を用い、BLB12 時間日長、25°C で 3 反復を設けて分生子形成を調査した。

実験5 変温効果

実験4と同じ菌株と培地を用いて変温処理が分生子形成に及ぼす効果を検討した。平均温度は25°Cとして温度較差を $\pm 0^\circ\text{C}$, $\pm 2^\circ\text{C}$, $\pm 4^\circ\text{C}$ および $\pm 6^\circ\text{C}$ に設定し、温度変化は正弦曲線に従い明期に高温、暗期に低温とした。BLB12時間日長とし、3反復を設けた。

実験6 菌株間差異

分生子形成に対するBLB12時間日長下での温度の効果を多数の菌株で確認するために、Table 7に示す39菌株を用いて温度を25°Cおよび15°C恒温ならびに $25 \pm 6^\circ\text{C}$ 変温に設定し、分生子形成を調査した。温度変化の設定は実験5と同様である。培地はV-8培地を用い、2反復を設けた。

結果および考察

1. BLB照射の日長効果

実験1のそれぞれの培養条件における分生子形成量をTable 1に示した。分生子形成に対する日長処理の効果はBLB日長12時間をピークとして、日長が短く、あるいは長くなるに従って分生子形成が減少する傾向が認められた。一方、見里・原培地では分生子形成が少ないなど、培地による差が認められた。また、K001菌株は見里・原培地で分生子形成が少なく、C102菌株はV-8培地で多い等、最適培地は菌株によって異なり、最適BLB日長についてもC1581菌株では12時間よりも短いなど、菌株によって異なった。さらに、K105菌株の大葉葉培地のように16時間ならびに23時間日長で形成が多い場合や、C1581菌株の大葉葉培地のように8時間日長で形成量が最大である場合など、特定の菌株と培地の組合せによって最適BLB日長が異なることも見出された。

これらの差異について分散分析を行ったTable 2によれば、菌株×培地×日長の三次の交互作用が有意であり、二次の交互作用の分散のうち菌株×培地、菌株×日長が三次の交互作用に比べて有意であった。また、主効果のうち培地および日長の効果はそれらに係する二次の交互作用に比べて有意に大きかった。

Table 1. Conidia formation of four *P. teres* isolates in different medium and different diurnal BLB irradiation time

Diurnal BLB irra. time (hrs)	K001			K105			C102			C1581			Mean
	A ¹⁾	B ¹⁾	C ¹⁾	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
0	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0.3 (0.8)	0 (0)	0 (0)	0.8 (0.8)	0.5 (0.8)	0 (0)	1.0 (1.0)	0.5 (0.8)	0.3 (0.4)
1	0	0.5	1.0	0.3	1.0	0.5	0	2.5	2.0	1.0	3.0	1.5	1.1
8	0	0.8	0.5	0.3	1.5	2.5	0	2.0	2.0	2.5	1.5	3.0	1.4
12	0	0.8	1.3	1.0	2.0	2.5	0.5	3.0	3.0	1.0	2.5	1.5	1.6
16	0	1.0	1.5	0	1.0	3.0	0.5	2.0	1.0	1.5	1.0	1.0	1.1
23	0	0.5	1.0	0.5	1.0	3.0	0.3	1.0	0	0.5	0.5	0.8	0.8
24	0.5 (0.5)	0.8 (0.8)	1.0 (1.0)	0 (2.0)	0.5 (2.5)	1.0 (1.5)	0.5 (2.0)	0 (2.5)	0 (2.0)	0.5 (3.0)	0.5 (3.0)	0 (1.0)	0.4 (1.8)
Mean	0.1	0.6	0.9	0.3	1.0	1.8	0.3	1.6	1.2	1.0	1.4	1.2	1.0

1) A: Misato-hara medium, B: V-8 medium, C: Barley leaf medium

(): Conidiophore formation

Degree of conidia or conidiophore formation, 0: none ~ 4: heavy

Table 2. Analysis of variance for conidia formation of four isolates cultured in different medium and different diurnal BLB irradiation time

Item	df	MS	F
Isolate (A)	3	3.613	13.34**
Medium (B)	2	12.594	46.50**
Irradiation (C)	6	5.715	21.10**
A × B	6	1.731	6.39**
B × C	12	0.889	3.28**
A × C	18	1.290	4.76**
A × B × C	36	0.602	2.22**
Error	84	0.271	

** : Compared with the error or interactions concerned, significant at the 1 % level.

既往の報告によれば, ONESIROSAN and BANTTARI (1969) は分生子柄形成には310~355 nm の波長が必要で, その後分生子の形成には355~495nm の波長域を除くか暗期処理を行なう必要があるとしている。また, LEACH (1961) は *P. teres* と同じ不完全時代を持つ *Helminthosporium oryzae* で, 近紫外光が分生子柄形成を促進し, 近紫外光照射後の暗期が分生子形成を促進するとしている。

今回の実験結果においても, Table 1 にみられるとおり分生子柄形成は連続暗期で少なく, BLB 連続照射では多いことから, BLB 照射が分生子柄形成を促進することが確認できた。また多くの場合, BLB 連続照射区に分生子柄形成指数は分生子形成指数よりも高く, 最適 BLB 日長の分生子形成指数に近いことから, BLB 連続照射の条件では分生子柄の形成が促進されるものの, その上に分生子が十分には形成されておらず, 分生子が形成されるためには暗期が必要と考えられる。

今回の実験は BLB 照射と暗期の1サイクルを24時間とする日長処理であるが, LEACH (1961) は *P. teres* と同じ不完全時代を有する *H. oryzae* の分生子形成には同じ長さの BLB と暗期を交互に繰り返すサイクルの間隔が8時間以上必要であるとしている。

本実験で明らかにされたように, *P. teres* は連続暗期ならびに BLB 連続照射でも分生子が形成される場合があること, BLB 日長1時間ならびに23時間でも連続暗期や BLB 連続照射より分生子形成がかなり高まることなどから, BLB 照射や暗期に対する要求が *H. oryzae* の場合ほど厳密ではないと考えられる。また, 分生子形成に要する日長が菌株によって異なることは, 宿主であるオオムギの栽培地域や作期に対応して菌が適応的に分化している可能性を示唆するものである。

BLB12時間日長で1日毎の菌糸の伸長領域別にみた分生子の形成状況(実験2)を Table 3 に示した。供試した4菌株は培養の各時期において1日(伸長した当日)ですでに分生子柄を形成していたが, 分生子は観察されなかった。培養の各時期における分生子形成は, 一般に培養初期ではやや遅れるが, それ以外の期間ではほぼ同一の速度で行われていると考えられた。また K105菌株は他の3菌株に比べて分生子形成がやや遅い傾向がみられた。

分生子形成指数の最大値は, K001菌株がほぼ1程度であるのに対し, K105菌株では2程度, C102ならびに C1581の両菌株では形成指数の最高値である4に達し, 菌株によりかなりの差が認められた。形成指数が最大に達するまでの日数についても, K105ならびに C102

Table 3. Conidia formation for isolates of *P. teres* for each diurnal mycelium growth zone

Culture period (days)	Order of diurnal growth zones from the margin									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(K001)										
1	0									
2	0	0.3								
3	0	1.0	— ¹⁾							
4	0	1.7	—	—						
5	0	1.0	—	—	—					
6	0	0.3	1.0	—	—	—				
7	0	1.0	1.0	—	—	—	—			
8	0	0.5	1.0	—	—	—	—	—		
9	0	0.3	1.0	—	—	—	—	—	—	
10	0	0.3	0.7	1.0	—	—	—	—	—	—
11	0	0.3	0.7	1.0	1.0	—	—	—	—	—
12	0	0.5	0.5	1.0	1.0	1.0	—	—	—	—
13	0	0.7	0.7	0.7	1.0	1.0	1.0	—	—	—
14	0	1.0	1.2	0.8	0.5	1.0	1.0	1.0	—	—
Mean	0	0.7	0.8	0.9	0.8	1.0	1.0	1.0	—	—
(K105)										
1	0									
2	0	0								
3	0	0	—							
4	0	—	—	—						
5	0	0	—	—	—					
6	0	0	—	—	—	—				
7	0	0	0.3	—	—	—	—			
8	0	0.3	1.0	1.0	—	—	—	—		
9	0	0.2	1.0	1.0	—	—	—	—	—	
10	0	0	0.7	1.0	—	—	—	—	—	—
11	0	0.3	0.7	1.5	—	—	—	—	—	—
12	0	0	1.0	1.3	2.0	—	—	—	—	—
13	0	0.3	1.7	1.7	1.5	—	—	—	—	—
14	0	0.3	1.7	2.0	2.0	1.0	—	—	—	—
Mean	0	0.1	1.1	1.5	1.8	1.0	—	—	—	—

1) : Conidia scoring was disturbed by aerial hyphae.

Degree of conidia formation, 0 : none ~ 4 : heavy

の両菌株では5日、K001菌株では6日、C1581菌株では8日と差が認められた。各菌株ともコロニーの中心（菌糸が最初に伸長した部分）は分生子が形成され始めても気中菌糸に覆われてその後の分生子形成が阻害される傾向がみられるが、この気中菌糸の被覆はK105菌株で多く、C1581菌株では少ないなど菌株間差が認められた。

以上の結果から、菌糸が伸長してから分生子形成が開始されるまでの日数は、各菌株とも、コロニーのいずれの場所でも2、3日と大差はないが、その後の分生子の増加と気中菌糸による分生子形成阻害には菌株間差が認められ、両者が分生子の最終的な形成量に影響

Table 3. (Continued)

Culture period (days)	Order of diurnal growth zones from the margin									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(C102)										
1	0									
2	0	0								
3	0	1.0	—							
4	0	2.0	—	—						
5	0	1.0	—	—	—					
6	0	2.0	—	—	—	—				
7	0	2.0	3.0	—	—	—	—			
8	0	2.0	3.0	—	—	—	—	—		
9	0	1.7	3.0	—	—	—	—	—	—	
10	0	2.0	3.0	4.0	—	—	—	—	—	—
11	0	2.0	3.0	4.0	—	—	—	—	—	—
12	0	2.0	3.0	3.7	4.0	—	—	—	—	—
13	0	2.0	3.0	4.0	4.0	4.0	—	—	—	—
14	0	2.3	3.3	4.0	4.0	4.0	4.0	—	—	—
Mean	0	1.7	3.0	3.9	4.0	4.0	4.0	—	—	—
(C1581)										
1	0									
2	0	0								
3	0	1.0	—							
4	0	2.0	—	—						
5	0	1.0	2.0	—	—					
6	0	2.0	3.0	—	—	—				
7	0	1.5	3.0	—	—	—	—			
8	0	2.3	3.0	3.0	—	—	—	—		
9	0	2.3	3.0	4.0	4.0	—	—	—	—	
10	0	2.3	3.0	3.5	4.0	4.0	—	—	—	—
11	0	2.0	3.0	3.3	4.0	4.0	4.0	—	—	—
12	0	2.0	3.0	3.3	3.7	4.0	4.0	4.0	—	—
13	0	2.0	3.0	3.3	3.7	3.7	4.0	4.0	4.0	—
14	0	2.0	2.7	3.3	3.3	3.7	3.7	4.0	4.0	4.0
Mean	0	1.9	2.9	3.4	3.7	3.8	3.9	4.0	4.0	4.0

響していると考えられた。

分生子は菌糸が伸長して2日目からすでに形成されはじめるので、培養期間が長い場合には分生子の熟度が不揃いになる。そこで分生子の熟度を揃えるために同調培養(山口1980)を試みた結果を Table 4 (実験3)に示した。ちなみに、V-8培地上での25°Cにおける菌糸の日平均伸長は、K001菌株で5.6mm、C102菌株で5.3mmで、菌そう片をペトリ皿の中心に置床してから菌糸が直径9cmのペトリ皿を満たすまでには9~10日を要する。従って前期の処理が10日以上となる区の大部分では、前期ですでに菌糸がペトリ皿の外周に達し、後期の伸長領域の分生子形成指数は調査できなかった。

Table 4の下段に示されるように、連続暗黒ならびに BLB 連続照射では両菌株ともほ

Table 4. Conidia formation of *P. teres* isolates treated with changes of irradiate condition (1st & 2nd) and with(+) or without(-) aerial hyphae removal

Phase (days)		Isolate	Cont. dark→BLB12h (1st) (2nd)				BLB24h→BLB12h (1st) (2nd)				Cont. BLB12h (1st & 2nd)	
			-		+ ¹⁾		-		+		+	
			1st ²⁾	2nd ²⁾	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd	1st	2nd
2	12	K001	0.7	1.0	0.7	0.7	0.5	0.5	1.0	0.3	1.7	1.0
		C102	0	3.0	0.7	3.0	0	3.0	0*	3.0	2.7	2.7
4	10	K001	0	1.7	1.0	1.0	0.7	1.0	1.0	1.5	0.8	1.7
		C102	0.2	3.0	2.0	3.3	0	3.0	1.7	2.2	1.3	3.7
6	8	K001	0	1.3	1.0	2.0	1.3	1.0	0.5	0.8	0	1.3
		C102	0	3.0	3.0	3.3	0	2.7	2.7	3.3	2.7	3.7
8	6	K001	0	0	0.7	0	1.3	0.3	0.5	0.2	0.2	0
		C102	1.0	2.0	2.3	2.3	1.7	2.0	2.7	2.3	2.3	2.3
10	4	K001	0	— ³⁾	0	—	1.0	—	0	—	0	—
		C102	1.7	—	2.0	—	1.0	1.3	1.7	2.0	2.0	0.7
12	2	K001	0	—	0	—	1.0	—	0.3	—	0	—
		C102	0.7	—	1.3	—	1.7	—	0.2	—	0.5	—
14	0	K001	0				0.3				1.5 ⁴⁾	
		C102	0				0				2.3 ⁴⁾	

Degree of conidia formation, 0 : none~ 4 : heavy

1) : Aerial hyphae was removed at the end of 1st phase.

2) : Culture zone correspond to its irradiate condition.

3) : No score for 2nd zone because the colony reached the margin of petri dish within 1st phase.

4) : Without aerial hyphae removal.

ほとんど分生子が形成されなかった。対照として設けた BLB12時間日長での K001菌株ならびに C102菌株の分生子形成指数はそれぞれ1.5ならびに2.3なので、各処理区の形成指数がこれらの値よりも高ければその処理は有効な分生子形成法と考えられる。

K001菌株では後期の処理中に伸長した領域において対照よりも形成指数が大きい処理区があるものの、前・後期の両領域とも対照より形成指数が高い処理はなかった。一方、C102菌株においては、いくつかの処理区で対照区を上回る分生子形成が得られた。特に前期の処理日数を6日間として気中菌糸の除去を行った3種類の処理では、前期ならびに後期の両領域の平均指数が3.0以上であった。

古田・関口(1967)はイネいもち病菌(*Pyricularia oryzae*)の胞子形成法として、菌そうがペトリ皿全面を覆った段階で菌そう面を筆でこすり、気中菌糸を取り除くことで熟度の斉一な胞子を得ている。*P. teres*においても分生子の熟度を斉一にする上では25°Cで10日程度培養し(光は不要)、菌糸が培地上に充分伸長してから気中菌糸を除去し、BLB12時間日長で4日程度培養して一斉に分生子を形成させるのが効果的と思われる。Table 3の各菌株の分生子形成に要する期間から判断すると、分生子を形成させるためのBLB照射は4日間で十分と考えられる。なお、前期の処理日数を10日間とする区において、C102菌株では連続BLB12時間日長区に近い分生子形成が得られたが、K001菌株では実用的に利用できる量の分生子は得られなかった。従って、この処理方法はすべての菌株に有効とは言えない。

2. BLB12時間日長における温度および培地の効果

BLB12時間日長下での3種類の培地と5段階の温度における分生子形成を Table 5 に示した(実験4)。各菌株の分生子形成に対する好適温度は、北海道産の K001と K105の両菌株が25°C 程度とみられるのに対し、カナダ産の C102と C1581の両菌株は、見里・原培地を除けば低温でも分生子形成が多い傾向がみられた。特に C102菌株では10°C でも25°C と同じ程度の分生子が形成された。一般に、様々な菌株に短期間で分生子を形成させるためには25°C で培養するのが適当と考えられる。

次に実験5で正弦曲線に従って変温処理を与えた場合の分生子形成量を Table 6 に示した。その分散分析の結果を Table 7 に示す。培地および菌株の主効果は交互作用に比べてかなり大きいので、分生子形成量は培地および菌株によって異なるといえる。また、変温処理×培地の交互作用が有意で、培地によって変温効果が異なり、特にV-8培地での±4°C ならびに±6°C 区が他の処理に比べて分生子形成が多かった。さらに、菌株×培地の交互作用も有意であるが、これは K105菌株の分生子形成が見里・原培地で劣ることによるとみられる。

このように、これまで分生子形成が比較的少なかった K001, K105の両菌株も、BLB12時間日長でV-8培地を用い、25±6°C で培養することにより、分生子形成を増加させるこ

Table 5. Conidia formation of *P. teres* isolates in different temperature and medium with 12-hour diurnal BLB irradiation

Temperature	K001			K105			C102			C1581			Mean
	A ¹⁾	B ¹⁾	C ¹⁾	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
10°C	0	0.3	0.2	0	0	0	0	3.0	3.0	0	1.0	1.3	0.7
15°C	0	0	0.3	0	0	0	0.3	2.7	2.7	0	1.0	1.7	0.7
20°C	0.3	1.3	0.7	0.3	1.0	1.0	1.0	3.0	3.0	0	2.3	2.0	1.3
25°C	0.3	1.7	1.0	0.7	3.0	2.7	1.3	2.7	3.0	1.0	2.3	1.0	1.7
30°C	0	0	1.0	0.7	0	0.3	0	0.3	1.3	0.3	0.3	0.7	0.4
Mean	0.1	0.7	0.6	0.3	0.8	0.8	0.5	2.3	2.6	0.3	1.4	1.3	1.0

1) A : Misato-hara medium, B : V-8 medium, C : Barley leaf medium

Degree of conidia formation, 0 : none~ 4 : heavy

Table 6. Conidia formation of *P. teres* isolates in different medium and diurnally varying temperature

Temperature	K001			K105			C102			C1581			Mean
	A ¹⁾	B ¹⁾	C ¹⁾	A	B	C	A	B	C	A	B	C	
25±0°C	1.7	1.3	2.7	0.3	0.3	1.7	1.5	3.0	3.0	2.0	3.0	2.0	1.9
25±2°C	1.3	1.7	1.3	0.3	1.0	0.7	2.0	2.7	3.0	1.0	3.7	1.5	1.7
25±4°C	1.3	2.3	3.0	0.7	2.7	1.0	1.7	3.7	3.0	2.0	3.7	3.3	2.4
25±6°C	2.0	4.0	3.0	0	2.0	0.7	1.3	3.3	3.3	2.7	4.0	2.3	2.4
Mean	1.6	2.3	2.5	0.3	1.5	1.0	1.6	2.9	3.1	1.9	3.6	2.3	2.1

1) A : Misato-hara medium, B : V-8 medium, C : Barley leaf medium

Degree of conidia formation, 0 : none~ 4 : heavy

Table 7. Analysis of variance for conidia formation in different medium and diurnally varying temperature

Item	df	MS	F
Temperature (A)	3	4.477	8.11**
Medium (B)	2	20.877	37.81**
Isolate (C)	3	20.088	36.39**
A × B	6	1.222	2.21*
B × C	6	1.624	2.94*
A × C	9	0.839	1.52
A × B × C	18	0.726	1.31
Error	96	0.552	

*, ** : Compared with the interactions concerned, significant at the 5 % and 1 % levels, respectively.

とが可能になった。Table 6によれば供試菌株の範囲では V-8 培地で $\pm 4^{\circ}\text{C}$ あるいは $\pm 6^{\circ}\text{C}$ の変温条件が最も分生子形成が多いとみられる。

実験 6 で来歴および特徴の異なる合計 39 の菌株を V-8 培地で 15°C 恒温、 25°C 恒温および $25 \pm 6^{\circ}\text{C}$ 変温の 3 条件で培養し、分生子形成を調査した結果を Table 8 に示す。各処理区に分生子形成指数を菌株平均値でみると、 15°C 恒温区が 0.6 であるのに対し、 25°C 恒温区が 2.3、 $25 \pm 6^{\circ}\text{C}$ 変温区が 2.6 と顕著な差が認められた。また、分生子形成指数が実用的に使用可能な 2 以上の菌株は 25°C 恒温区では 29 菌株であるのに対して $25 \pm 6^{\circ}\text{C}$ 変温区では 34 菌株で、より多くの菌株に分生子を形成させるためには恒温よりも変温の方が好適であることが示された。

一方、 15°C 恒温区ではほとんどの菌株で分生子形成指数が 1 以下であったが、カナダ産の 5 菌株ではいずれも 1.5 以上、菌株によっては 3.5 に達し、また、埼玉県産の 1 菌株も 3 であった。これらの事実は分生子形成の温度反応が菌株によって異なることを示しており、菌株の適応的分化を解析するうえで興味深い。

LEACH (1967) は、6 種類の菌を孢子形成条件により二つに区分している。その一つは高温と近紫外光によって分生子柄が形成される “inductive phase” と、低温によって分生子が形成される “terminal phase” (ここでは近紫外光と青色光が阻害的に働く) の 2 つの相 (phase) を持つ “Diurnal Spolulators” であり、もう一つは明確な相を持たず、低温と近紫外光で孢子が形成され、照射後の暗期で形成量が増加する “Constant Temperature Spolulators” である。*P. teres* と同一の不完全時代を有する *Helminthosporium catenarium* は後者に属しているが、今回供試した *P. teres* は、BLB 連続照射よりも BLB12 時間日長で分生子形成が多いこと、ならびに変温処理が有効であることから、むしろ “Diurnal Spolulators” の範疇に区分されると考えられた。

以上のことから、*P. teres* の分生子を形成させるより普遍的な条件としては、V-8 培地を用い、BLB12 時間照明、 $25^{\circ}\text{C} \pm 6^{\circ}\text{C}$ の変温条件で培養するのが適当と考えられた。

Table 8 . Conidia formation for isolates of *P. teres* in three culture conditions

Isolate	Country	Place of collection	Barley type	Symptom type	Conidia formation at		
					25± 0 °C	25± 6 °C	15± 0 °C
K001	Japan	Kitami	Spring	Net	2.0	3.0	0
K002	"	"	"	"	1.5	3.0	0
K003	"	"	"	"	0	1.0	0
K004	"	"	"	"	0	0	0
K005	"	"	"	"	2.5	3.0	0
K006	"	"	"	"	3.0	3.5	0.3
K007	"	"	"	"	0	1.0	0
K008	"	"	"	"	2.0	2.5	1.0
K009	"	"	"	"	3.0	3.0	1.0
K010	"	"	"	"	2.5	3.0	1.0
K101	"	Abashiri	"	"	2.5	3.0	0
K102	"	"	"	"	2.5	3.0	0.3
K103	"	"	"	"	1.5	3.0	0
K104	"	"	"	"	3.0	2.5	0.3
K105	"	"	"	"	3.0	2.5	0
K106	"	"	"	"	3.0	3.0	0
K107	"	"	"	"	3.0	2.0	1.0
K108	"	"	"	"	0.5	2.5	0
K110	"	"	"	"	4.0	3.0	0
K111	"	"	"	"	3.0	3.0	0.5
K112	"	"	"	"	3.0	3.0	0
K113	"	"	"	"	2.5	2.5	0.5
K115	"	"	"	"	1.0	2.5	0
K116	"	"	"	"	2.5	3.5	0.5
K117	"	"	"	"	2.5	3.0	0
K118	"	"	"	"	3.0	3.0	0
K119	"	"	"	"	2.0	2.0	0
K120	"	"	"	"	1.0	2.0	0
K121	"	"	"	"	2.5	3.0	0
K122	"	"	"	"	3.0	2.0	0.5
C102	Canada ¹⁾	Saskatchewan	"	"	4.0	3.0	3.0
C857	"	"	"	Spot	2.0	2.5	2.0
C1566	"	"	"	"	2.5	1.0	1.5
C1581	"	Alberta	"	Net	3.5	4.0	1.5
C1607	"	"	"	"	3.5	4.0	3.5
C1679	"	Manitoba	"	"	3.0	3.0	1.5
Pt860514	Japan ²⁾	Ibaragi	Winter	"	1.5	3.0	0
Pt870418	"	Chiba	"	"	0	0	0
Pt870426	"	Saitama	"	"	2.5	2.0	3.0
Mean					2.3	2.6	0.6

1), 2) : Isolates from Dr. Tecauz, Agr. Canada and Dr. Oku, Univ. of Tokyo, respectively.

Degree of conidia formation, 0 : none~ 4 : heavy

摘 要

北海道、関東およびカナダで採取した大麦網斑病菌 (*Pyrenophora teres*) を供試し、分生子形成に及ぼす近紫外光 (BLB) 照射の日長効果、BLB 日長処理条件下での培地、気中菌糸の除去および温度処理の効果を検討した。結果の概要は以下のとおりである。

1) 分生子形成に対する最適 BLB 日長は菌株によって多少異なったが、平均的には12時間が最適とみられ、日長が長くあるいは短くなるに従って分生子形成が減少する傾向が示された。

2) BLB12時間日長で分生子形成を経時的に調査した結果、供試4菌株のいずれにおいても菌糸が伸長した2、3日後に分生子が形成され始めるが、分生子形成の量ならびに速度には菌株間差が認められた。また、コロニーの中心部が菌糸に被覆されることによって分生子の形成が阻害される程度にも菌株間差が認められた。

3) 分生子形成に対する気中菌糸の除去効果は菌株によって異なった。

4) 4菌株を10~30°Cで培養した結果、BLB12時間照明での分生子形成に対する適温は25°C程度とみられるが、カナダの2菌株においては10°Cおよび15°Cの低温においても多量の分生子が形成された。

5) 25°Cを中心とする0~±6°Cの変温処理を行った結果、25°C±4°Cないし±6°Cの変温処理で分生子形成が増加した。さらに、39菌株を15°C恒温、25°C恒温ならびに25±6°Cで培養したところ、カナダの菌株などいくつかの菌株では15°C恒温条件でも分生子がよく形成されたが、一般的には25±6°Cで最も分生子形成が多かった。

6) 以上の結果、多様な菌株に安定して分生子を形成させるためには、V-8培地を用い、BLB12時間照明、25°C±6°Cの変温条件で培養するのが適当と考えられた。

引 用 文 献

- CARLILE, M. J. 1965. The photobiology of fungi. Ann. Rev. Plant Physiol. 16 : 175-202.
古田 力・関口義兼. 1967. いもち病菌の胞子形成法. 植物防疫 21 : 160-162.
LEACH, C. M. 1961. The sporulation of *Helminthosporium oryzae* as affected by exposure to near ultraviolet radiation and dark periods. Can. J. Bot. 39 : 705-715.
LEACH, C. M. 1967. Interaction of near-ultraviolet light and temperature on sporulation of the fungi *Alternaria*, *Cercospora*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, and *Stemphylium*. Can. J. Bot. 45 : 1999-2016.
ONESIROSAN, P. T. and E. E. BANTTARI. 1969. The effect of light and temperature upon sporulation of *Helminthosporium teres* in culture. Phytopathology 59 : 906-909.
佐藤和広・武田和義. 1990. 大麦網斑病菌 (*Pyrenophora teres* Drechs.) の分生子形成に関する研究 I. 温度、培地および光質の効果. 農学研究 62 : 151-163.
山口富夫. 1980. いもち病菌の一般的試験法 イネのいもち病抵抗性育種 : 140-174. 博友社. 東京.

Studies on the Conidia Formation of *Pyrenophora teres* Drechs.

II. Effects of day-length, medium and temperature under near-ultraviolet radiation

Kazuhiro SATO and Kazuyoshi TAKEDA

Summary

In some fungal pathogens, sporulation is introduced by near-ultraviolet irradiation and darkness. SATO and TAKEDA (1990) reported that the irradiation of near-ultraviolet light (BLB) and white fluorescent light was effective for conidiophore formation, whereas other factors were necessary for abundant conidia formation. The effects of diurnal BLB irradiation and darkness, medium, aerial hyphae removal and temperature for the sporulation of *P. teres* were examined using isolates from Canada and Japan.

1) When four isolates were cultured in three kinds of media at 25°C, the average sporulation was the greatest under a diurnal 12-hour BLB irradiation and reduced gradually with extension or reduction in the BLB irradiation period. However, the optimum diurnal BLB irradiation period for the sporulation was different among the four isolates.

2) After the mycelium was formed in each diurnal growing zone, the sporulation began almost 2 or 3 days later, when isolates were cultured for 14 days under a 12-hour BLB irradiation at 25°C, while the maximum score of sporulation and the length of time from the beginning to the maximum sporulation were different among the four isolates. A difference also existed for the prevention of sporulation by aerial hyphae in the older culture zone.

3) The effect for the sporulation by aerial hyphae removal was different among the four isolates.

4) The optimum temperature for the sporulation was around 25°C under a diurnal 12-hour BLB irradiation, while two Canadian isolates also sporulated fairly well at 10°C or 15°C.

5) Two isolates from Hokkaido sporulated fairly well with the diurnal variation of temperature. Among 39 isolates, the diurnal variation of temperature under a diurnal 12-hour BLB irradiation had a positive effect for the sporulation, and fairly good sporulation was observed by low temperature treatment in some Canadian isolates and a Japanese isolate.

6) As the general culture method for the sporulation of various isolates of *P. teres*, isolates should be cultured on V-8 medium at 25 ± 6 °C under a diurnal 12-hour BLB irradiation.